HUMAN IgG SUBCLASS LIQUID REAGENT KITS (for use on the Siemens BN ProSpec® Analyser*)

For *in-vitro* diagnostic use

Product code: LK001.P, NK006.P, NK007.P, LK008.P, LK009.P

Product manufactured by:
The Binding Site Group Ltd, PO Box 11712, Birmingham B14 4ZB, U.K.
www.bindingsite.co.uk

Telephone : +44 (0)121 436 1000
Fax : +44 (0)121 430 7061
e-mail: info@bindingsite.co.uk

CE

1 INTENDED USE

This kit is intended for quantifying human IgG subclasses 1, 2, 3 and 4 immunoglobulins in serum on the BN ProSpec. Measurement of these immunoglobulins aids in the diagnosis of abnormal protein metabolism and the body's lack of ability to resist infectious agents.

2 SUMMARY AND EXPLANATION

In normal adults, IgG constitutes approximately 75% of the total serum immunoglobulin. Within the IgG class, the usual order of concentration of the 4 subclasses is IgG1>IgG2>IgG3>IgG4, but the actual concentration of each may vary markedly between individuals.
The four IgG subclasses show considerable differences in their properties, including ability to fix complement, to bind to macrophages and to pass through the placenta. Abnormal levels of one or more subclass may be associated with certain conditions, including anaphylaxis, autoimmune and gut diseases as well as hypo- and hyper-gammaglobulinaemia (ref 1). In particular, reduced production of IgG2 in children may be associated with recurrent infections (ref 2). The subject has been reviewed (refs 3, 4).
The BN ProSpec permits fully automatic, rapid quantitative measurement of light scattering reactions for protein determination.

3 PRINCIPLE OF THE ASSAY

Nephelometry involves the measurement of light scattered by particles in solution. This can be applied to the measurement of soluble antigen since, in the presence of the appropriate antibody, insoluble immune complexes are formed, which are light-scattering. When the antibody is in excess, the light-scatter is directly proportional to the concentration of antigen. A calibration curve is initially prepared using a series of diluted standards of known antigen concentration. Samples of unknown antigen concentration can then be assayed and their concentrations determined using the calibration curve.

Latex-enhanced Antibodies Some antigen-antibody reactions do not form sufficiently large immune complexes to be detected nephelometrically. If the antibody is coated onto latex particles of a suitable size, the light scattering ability of the immune complexes formed with antigen is enhanced sufficiently to enable nephelometric detection.

4 REAGENTS

4.1 Human IgG1/ IgG2 antisera. These are monospecific for the relevant subclass and are supplied in stabilised liquid form. They contain 0.099% sodium azide, 0.1% E-amino-n-caproic acid (EACA), 0.5% BSA and 0.01% benzamidine as preservatives.

4.2 Human IgG3 / IgG4 reagent. These are monospecific for the relevant subclass and are supplied in stabilised liquid form. They contain 0.033% sodium azide, 0.05% ProClin™*, 0.1% EACA and 0.01% benzamidine as preservatives.

4.3 Calibrators and controls. These consist of pooled human serum and are supplied in stabilised liquid form. They contain 0.099% sodium azide, 0.1% EACA and 0.01% benzamidine as preservatives. The concentration of IgG subclasses given on the vial label has been obtained by comparison with the CRM470 international reference material (ref.5).

4.4 Supplementary reagent. Contains 0.099% sodium azide as a preservative.

**ProClin™ is a trademark of Rohm and Haas Corp., Philadelphia, PA.*

5 CAUTION

All donors of human serum supplied in this kit have been serum tested and found negative for hepatitis B surface antigen (HBsAg) and antibodies to human immunodeficiency virus (HIV1 and HIV2) and hepatitis C virus. The assays used were either approved by the FDA (USA) or cleared for *in vitro* diagnostic use in the EU (Directive 98/79/EC, Annex II); however, these tests cannot guarantee the absence of infective agents. Proper handling and disposal methods should be established as for all potentially infective material, including (but not limited to) users wearing suitable protective equipment and clothing at all times. Only personnel fully trained in such methods should be permitted to perform these procedures.

WARNING: This product contains sodium azide and ProClin 300 and must be handled with caution; suitable gloves and other protective clothing should be worn at all times when handling this product. Do not ingest or allow contact with the skin (particularly broken skin or open wounds) or mucous membranes. If contact does occur wash with a large volume of water and seek urgent medical advice. Explosive metal azides may be formed on prolonged contact of sodium azide with lead and copper plumbing; on disposal of reagent, flush with a large volume of water to prevent azide build up.

This product should only be used by suitably trained personnel for the purposes stated in the Intended Use. Strict adherence to these instructions is essential at all times. Results are likely to be invalid if parameters other than those stated in these instructions are used.

Reagents from different batch numbers of kits are **NOT** interchangeable. If large numbers of tests are performed care should be taken to ensure that all the reagents are from the same batch.

6 STORAGE AND STABILITY

The unopened kits should be stored at 2-8ºC, and can be used until the expiry date given on the kit box label. Unopened reagent, calibrators and controls should be stored at 2-8ºC. Once opened, they are stable for four weeks at 2-8ºC, providing precautions to prevent evaporation and contamination are taken. Open vials should not be left on the analyser when they are not in use.
Over time unopened vials of antisera can develop a precipitate or turbidity which is not caused by microbial contamination and does not affect the activity of the antisera. In such cases the antiserum should be clarified by filtration through a disposable filter, pore size 0.2µm or by centrifugation (10mins at approximately 15,000 x g).

7 SPECIMEN COLLECTION AND PREPARATION

Use fresh or deep frozen serum samples. Blood samples should be collected by venepuncture, allowed to clot naturally and the serum separated as soon as possible to prevent haemolysis.
The serum may be stored at 2-8°C for up to 8 days prior to assay, or for prolonged storage kept undiluted at -20°C or below. Repeated freezing and thawing should be avoided.
Microbially contaminated, haemolysed and lipaemic serum and samples containing particulate matter should not be used.

8 METHODOLOGY

8.1 Materials provided, code: LK001.P kit

8.1.1 2 x 1mL *BS IgG Sub Std* (Human IgG Subclass Standard)
8.1.2 2 x 1mL *BS IgG Sub Low Control* (Human IgG Subclass Low Control)
8.1.3 2 x 1mL *BS IgG Sub Control* (Human IgG Subclass High Control)
8.1.4 1 x 1.6mL *Human IgG1 BS Antiserum* (Antiserum to IgG1)
8.1.5 1 x 1.6mL *Human IgG2 BS Antiserum* (Antiserum to IgG2)
8.1.6 1 x 2.4mL *IgG3 BS Latex* (Latex to IgG3)
8.1.7 1 x 2.4mL *IgG4 BS Latex* (Latex to IgG4)
8.1.8 1 x 3mL *BS Supplementary Reagent L* (for IgG3 and IgG4 assay)

8.2 Code: NK006.P, NK007.P, LK008.P and LK009.P kits

8.2.1 2 x 1mL *BS IgG Sub Std (Human IgG Subclass Standard)*
8.2.2 2 x 1mL *BS IgG Sub Low Control (Human IgG Subclass Low Control)*
8.2.3 2 x 1mL *BS IgG Sub Control (Human IgG Subclass High Control)*
8.2.4 4 x 1.6mL *antiserum or 4 x 2.4mL Latex Reagent to the appropriate subclass*
8.2.5 2 x 3.0mL *BS Supplementary Reagent L in LK008.P and LK009.P kits only*

8.3 Materials required but not provided

8.3.1 Equipment for collection and preparation of test samples.
8.3.2 A fully operational and equipped Analyser.

8.4 Test procedure

8.4.1 The user should be familiar with the operation of the BN ProSpec analyser before attempting to carry out the test procedures.
8.4.2 Prepare the analyser as per the user's manual.
8.4.3 The IgG subclass assay protocols are defined in the analyser.
8.4.4 A Siemens representative is required to create the new assay protocols.

IgG1

Assay-Details
Assay-ID: 201 | Name: G1 | long name: TBS IgG1
Version: 100 | Assayclass: Neph | Assaygroup: Serum
Result unit: mg/L | Sample dilution: 1:100 | Min. dilution: 1:5

Evaluation:
Measurement duration [1/10 sec.]: 3600 | Measurement transfer: 2
Evaluation method: 8 - Two point (BNII) | Meas window [1/10 sec.] from: 75 until: 3600
Blockmode: 0 | Overflow: 0

Calibration:
Calibration method: LogitLog | Calibrator: 1306 - IgG Std
Deviation[%]: 5% | Start dilution: 1:10
Cal valid until: 100 | Supporting points: 6

Special parameters:
Parameter 1: 2

Controls:

Control ID	Name	Dilution	Deviation[%]	Level
0776	TBS IgG Sc.1	1:100	15	Medium
0975	TBS IgG Sc.2	1:100	15	Low

Transfers: 1
Mixing: No mixing | Start wash: 06 - goto waste | End wash: 00 - normal
Incubation time[1/10sec.]: 0 | Incubation delta [1/10sec.]: 0

Medium 1:
Type: SystemLiquid | Medium ID: Buffer
Syringe profile: 7 | Volume[µl]: 170

Medium 2:
Type: SystemLiquid | Medium ID: Air Bubble
Syringe profile: 2 | Volume[µl]: 2

Medium 3:
Type: Sample | Medium ID: | No Calib
Syringe profile: 3 | Volume[µl]: 20

Medium 4:
Type: Destination | Medium ID:
Syringe profile: 3 | Volume[µl]: -92

Transfers: 2
Mixing: normal | Start wash: 06 - goto waste | End wash: 06 - park needle
Incubation time[1/10sec.]: 0 | Incubation delta [1/10sec.]: 0

Medium 1:
Type: SystemLiquid | Medium ID: Buffer
Syringe profile: 7 | Volume[µl]: 170

Medium 2:
Type: SystemLiquid | Medium ID: Air Bubble
Syringe profile: 2 | Volume[µl]: 2

Medium 3:
Type: Reagent | Medium ID: 1301 - G1 | No Calib
Syringe profile: 3 | Volume[µl]: 40

Medium 4:
Type: Destination | Medium ID:
Syringe profile: 6 | Volume[µl]: -112

IgG2

Assay-Details
Assay-ID: 202 | Name: G2 | long name: TBS IgG2
Version: 100 | Assayclass: Neph | Assaygroup: Serum
Result unit: mg/L | Sample dilution: 1:20 | Min. dilution: 1:5

Evaluation:
Measurement duration [1/10 sec.]: 3600 | Measurement transfer: 2
Evaluation method: 8 - Two point (BNII) | Meas window [1/10 sec.] from: 75 until: 3600
Blockmode: 0 | Overflow: 0

Calibration:
Calibration method: LogitLog | Calibrator: 1306 - IgG Std
Deviation[%]: 5% | Start dilution: 1:5
Cal valid until: 100 | Supporting points: 6

Special parameters:
Parameter 1: 2

Controls:

Control ID	Name	Dilution	Deviation[%]	Level
0776	TBS IgG Sc.1	1:20	15	Medium
0975	TBS IgG Sc.2	1:20	15	Low

Transfers: 1
Mixing: No mixing | Start wash: 06 - goto waste | End wash: 00 - normal
Incubation time[1/10sec.]: 0 | Incubation delta [1/10sec.]: 0
Medium 1:
Type: SystemLiquid | Medium ID: Buffer
Syringe profile: 7 | Volume[µl]: 170
Medium 2:
Type: SystemLiquid | Medium ID: Air Bubble
Syringe profile: 2 | Volume[µl]: 2
Medium 3:
Type: Sample | Medium ID: | No Calib
Syringe profile: 3 | Volume[µl]: 15
Medium 4:
Type: Destination | Medium ID:
Syringe profile: 3 | Volume[µl]: -87

Transfers: 2
Mixing: normal | Start wash: 06 - goto waste | End wash: 06 - park needle
Incubation time[1/10sec.]: 0 | Incubation delta [1/10sec.]: 0
Medium 1:
Type: SystemLiquid | Medium ID: Buffer
Syringe profile: 7 | Volume[µl]: 170
Medium 2:
Type: SystemLiquid | Medium ID: Air Bubble
Syringe profile: 2 | Volume[µl]: 2
Medium 3:
Type: Reagent | Medium ID: 1302 - G2 | No Calib
Syringe profile: 3 | Volume[µl]: 40
Medium 4:
Type: Destination | Medium ID:
Syringe profile: 6 | Volume[µl]: -112

IgG3

Assay-Details
Assay-ID: 203 | Name: G3L | long name: TBS LIgG3
Version: 100 | Assayclass: Neph | Assaygroup: Serum
Result unit: mg/L | Sample dilution: 1:100 | Min. dilution: 1:5
Evaluation:
Measurement duration [1/10 sec.]: 3600 | Measurement transfer: 2
Evaluation method: 8 - Two point (BNII) | Meas window [1/10 sec.] from: 75 until: 3600
Blockmode: 0 | Overflow: 0
Calibration:
Calibration method: LogitLog | Calibrator: 1306 - IgG Std
Deviation[%]: 5% | Start dilution: 1:80
Cal valid until: 100 | Supporting points: 5
Special parameters:
Parameter 1: 2
Controls:

Control ID	Name	Dilution	Deviation[%]	Level
0776	TBS IgG Sc.1	1:100	15	Medium
0975	TBS IgG Sc.2	1:100	15	Low

Transfers: 1
Mixing: No mixing | Start wash: 06 - goto waste | End wash: 00 - normal
Incubation time[1/10sec.]: 0 | Incubation delta [1/10sec.]: 0
Medium 1:
Type: SystemLiquid | Medium ID: Diluens
Syringe profile: 7 | Volume[µl]: 160
Medium 2:
Type: Reagent | Medium ID: 1305 - SRL
Syringe profile: 2 | Volume[µl]: 10
Medium 3:
Type: Sample | Medium ID: | No Calib
Syringe profile: 3 | Volume[µl]: 20
Medium 4:
Type: Destination | Medium ID:
Syringe profile: 3 | Volume[µl]: -90

Transfers: 2
Mixing: normal | Start wash: 06 - goto waste | End wash: 06 - park needle
Incubation time[1/10sec.]: 0 | Incubation delta [1/10sec.]: 0
Medium 1:
Type: SystemLiquid | Medium ID: Diluens
Syringe profile: 7 | Volume[µl]: 160
Medium 2:
Type: SystemLiquid | Medium ID: Air Bubble
Syringe profile: 2 | Volume[µl]: 2
Medium 3:
Type: Reagent | Medium ID: 1303 - G3L | No Calib
Syringe profile: 3 | Volume[µl]: 50
Medium 4:
Type: Destination | Medium ID:
Syringe profile: 6 | Volume[µl]: -112

IgG4

Assay-Details
Assay-ID: 204 | Name: G4L | long name: TBS LIgG4
Version: 100 | Assayclass: Neph | Assaygroup: Serum
Result unit: mg/L | Sample dilution: 1:100 | Min. dilution: 1:5
Evaluation:
Measurement duration [1/10 sec.]: 3600 | Measurement transfer: 2
Evaluation method: 8 - Two point (BNII) | Meas window [1/10 sec.] from: 75 until: 3600
Blockmode: 0 | Overflow: 0
Calibration:
Calibration method: LogitLog | Calibrator: 1306 - IgG Std
Deviation[%]: 5% | Start dilution: 1:80
Cal valid until: 100 | Supporting points: 5
Special parameters:
Parameter 1: 2
Controls:

Control ID	Name	Dilution	Deviation[%]	Level
0776	TBS IgG Sc.1	1:100	15	Medium
0975	TBS IgG Sc.2	1:100	15	Low

Transfers: 1
Mixing: No mixing | Start wash: 06 - goto waste | End wash: 00 - normal
Incubation time[1/10sec.]: 0 | Incubation delta [1/10sec.]: 0
Medium 1:
Type: SystemLiquid | Medium ID: Diluens
Syringe profile: 7 | Volume[µl]: 160
Medium 2:
Type: Reagent | Medium ID: 1305 - SRL
Syringe profile: 2 | Volume[µl]: 10
Medium 3:
Type: Sample | Medium ID: | No Calib
Syringe profile: 3 | Volume[µl]: 20
Medium 4:
Type: Destination | Medium ID:
Syringe profile: 3 | Volume[µl]: -90

Transfers: 2
Mixing: normal | Start wash: 06 - goto waste | End wash: 06 - park needle
Incubation time[1/10sec.]: 0 | Incubation delta [1/10sec.]: 0
Medium 1:
Type: SystemLiquid | Medium ID: Diluens
Syringe profile: 7 | Volume[µl]: 160
Medium 2:
Type: SystemLiquid | Medium ID: Air Bubble
Syringe profile: 2 | Volume[µl]: 2
Medium 3:
Type: Reagent | Medium ID: 1304 - G4L | No Calib
Syringe profile: 3 | Volume[µl]: 50
Medium 4:
Type: Destination | Medium ID:
Syringe profile: 6 | Volume[µl]: -112

8.5 Measuring range and sensitivity

Specificity	Approx. measuring range		Approx. sensitivity	
	mg/L	Sample dilution	mg/L	Sample dilution
IgG1	2625-84000	1/100	131	1/5
IgG2	613-19600	1/20	153	1/5
IgG3	55 – 875	1/100	2.7	1/5
IgG4	38 - 613	1/100	1.9	1/5

9 INTERPRETATION OF DATA

Quality Control: The IgG subclass concentration assigned to the controls are given on the bottle labels. Results obtained during the run should only be accepted if they are within ±15% of the value(s) stated.

10 LIMITATIONS

10.1 Nephelometric IgG Subclass assays have been shown to correlate well versus Binding Site Single Dilution RID assays with a wide range of samples.

10.2 These kits are not suitable for the measurement of samples containing rheumatoid factor, paraproteins, other circulating immune complexes (CIC`s) or for lipaemic or haemolysed samples due to the unpredictable degree of non-specific scatter these sample types may generate. Unexpected results should be confirmed using an alternative assay method.

10.3 Customers are strongly recommended to run both controls with every batch of samples being assayed, Should a control value be out of range against a stored curve, it is recommended that the assay be recalibrated. Where control values fall outside ±15% limits against new calibration curves check the instument before repeating the assay. If problems persist, refer to the supplier.

10.4 The results obtained from measuring IgG subclasses should not be used in assessing atopy in allergic patients.

10.5 Diagnosis cannot be made and treatment must not be initiated on the basis of IgG subclass measurements alone. Clinical history and other laboratory findings must also be taken into account.

11 EXPECTED VALUES

The ranges provided below have been obtained from a limited number of British samples and are intended for guidance purposes only. Wherever possible it is strongly recommended that local ranges are generated.

11.1 Adult normal ranges

These ranges were obtained by measuring the subclass content of sera provided by the Birmingham Blood Transfusion Service taken from healthy adult donors.

IgG Subclass	Number (n)	Mean (mg/L)	Median (mg/L)	95 Percentile Range (mg/L)
IgG1	30	6330	6085	3824 – 9286
IgG2	30	4528	4541	2418 – 7003
IgG3	30	790.7	706.4	218.2 –1760.6
IgG4	30	280.0	215.3	39.2 – 864.0

11.2 Paediatric ranges

These ranges were obtained by measuring the Total IgG and subclass content of paediatric serum samples from a Birmingham Hospital using Binding Site Radial Immunodiffusion products. All concentrations are in mg/L.

0-2 years	N	Mean	95%ile Range
IgG1	39	5248	1940 – 8420
IgG2	39	838	225 – 3000
IgG3	39	445	186 – 853
IgG4	39	129	5 – 784
Total IgG	39	6640	3270 – 12700
2-4 years			
IgG1	36	5495	3150 – 9450
IgG2	36	1146	360 – 2250
IgG3	36	396	173 – 676
IgG4	36	171	10 – 537
Total IgG	36	7770	4680 – 12500
4-6 years			
IgG1	49	6149	3060 – 9450
IgG2	49	1496	605 – 3450
IgG3	49	531	99 – 1221
IgG4	49	329	18 – 1125
Total IgG	49	9280	5320 - 13400
6-8 years			
IgG1	43	5758	2880 – 9180
IgG2	43	1754	440 – 3750
IgG3	43	437	155 – 853
IgG4	43	331	4 – 992
Total IgG	43	8860	4540 – 13600
8-10 years			
IgG1	32	6345	4320 – 10200
IgG2	32	2126	720 – 4300
IgG3	32	521	127 – 853
IgG4	32	349	19 – 932
Total IgG	32	9700	5680 - 13600
10-12 years			
IgG1	46	6421	4230 – 10600
IgG2	46	1980	760 – 3550
IgG3	46	620	173 – 1730
IgG4	46	323	16 – 1150
Total IgG	46	10200	5680 - 14900
12-14 years			
IgG1	54	6581	3420 – 11500
IgG2	54	2486	1000 – 4550
IgG3	54	583	283 – 1250
IgG4	54	409	37 – 1360
Total IgG	54	10500	6640 – 14900

14-18 years			
IgG1	48	6057	3150 – 8550
IgG2	48	2614	640 – 4950
IgG3	48	708	230 –1960
IgG4	48	521	110 – 1570
Total IgG	48	10100	5500 – 14400

12 PERFORMANCE CHARACTERISTICS

The performance characteristics shown here is data generated on a Siemens BN™II*, which is an analyser that performs in the same way as the BN ProSpec.

12.1 Within-run precision

Three serum preparations, containing different levels of IgG subclasses, were assayed 10 times. All concentrations are in mg/L.

	IgG1		IgG2		IgG3		IgG4	
	Mean	CV %	Mean	CV %	Mean	CV %	Mean	CV %
Serum 1	40529	1.56	8256	2.59	668.6	2.74	534.1	3.05
Serum 2	12630	1.67	1736	2.16	517.8	2.76	396.1	2.95
Serum 3	3350	6.44	758.5	8.19	353.1	3.49	324.8	5.08

12.2 Between-run precision

Three serum preparations containing different levels of IgG subclasses were assayed on at least three separate occasions. All concentrations are in mg/L. (N) = number of runs.

	IgG1		IgG2		IgG3		IgG4	
	Mean	CV % (N)	Mean	CV % (N)	Mean	CV % (N)	Mean	CV % (N)
Serum 1	40765	4.38 (6)	7811	6.84 (6)	697.5	4.41 (3)	532.6	4.10 (3)
Serum 2	12402	2.39 (6)	1621	4.18 (6)	525.9	2.38 (4)	387.7	4.13 (3)
Serum 3	3043	6.95 (6)	780.1	2.43 (6)	353.1	3.00 (3)	319.6	4.38 (4)

*BN™ is a trademark of Siemens Healthcare Diagnostics Inc.

13 BIBLIOGRAPHY

1. Shakib, F & Stanworth D R (1980). Human IgG subclasses in health and disease (Part II). La Ricerca Clin. Lab. 10, 561-580.
2. Shackleford, P G, Polmar, S H et al. (1986). Spectrum of IgG2 subclass deficiency in children with recurrent infections: Prospective study. J. Pediatr. 108, 647-653.
3. Hamilton, R H (1987), Human IgG subclass measurements in the clinical laboratory. Clin. Chem. 33, 1707-1725.
4. Schur, P H (1987), IgG subclasses – a review. Annals of Allergy 58, 89-99
5. Carr-Smith, H.D, Overton, J, Bradwell, A.R. (1997). IgG subclass value assignment to the protein reference preparation CRM470. Clin. Chem. Vol. 43, No 56, PS238.

IgG SUBKLASSEN (HUMAN) KIT (zur Verwendung auf dem Siemens BN ProSpec®∗)

Nur zur *in-vitro* Diagnostik

Bestell-Nr.: LK001.P, NK006.P, NK007.P, LK008.P, LK009.P

Hergestellt von:
The Binding Site Group Ltd, PO Box 11712, Birmingham, B14 4ZB, UK.
www.bindingsite.co .uk

Vertrieb in Deutschland und Österreich durch:
The Binding Site GmbH, Robert-Bosch-Straße 2A,
D-68723 Schwetzingen, Deutschland
Telefon: +49 (0)6202 92 62 0
Fax: +49 (0)6202 92 62 222
e-mail: office@bindingsite.de

∗ BN ProSpec® ist ein eingetragenes Warenzeichen von Siemens Healthcare Diagnostics, Inc.

CE

1 VERWENDUNGSZWECK

Zur quantitativen Bestimmung von Human IgG Subklassen 1, 2, 3 und 4 im Serum auf dem BN ProSpec. Die Bestimmung dieser Immunglobuline dient zur Unterstützung der Diagnose eines abnormalen Proteinmetabolismus und das Unvermögen des Körpers auf infektiöse Erreger zu reagieren.

2 EINLEITUNG

Bei gesunden Erwachsenen stellt IgG ca. 75% des Gesamtimmunglobulins dar. Innerhalb der IgG-Klasse nimmt die Konzentration in der Reihenfolge IgG1 > IgG2 > IgG3 > IgG4 ab, wobei der tatsächliche Gehalt individuell deutlich variieren kann.
Die vier IgG Subklassen zeigen deutliche Unterschiede in ihren Eigenschaften, wie z.B. Fähigkeit zur Komplementbindung, Makrophagenbindung und Placentadurchlässigkeit. Von der Norm abweichende Werte einer oder mehrerer Subklassen können mit verschiedenen Erkrankungen in Verbindung gebracht werden, z. B. Autoimmunerkrankungen, Anaphylaxie, Darmerkrankungen, sowie Hypo- und Hypergammaglobulinämien (Ref. 1). Speziell bei Kindern kann sich eine verminderte IgG2-Produktion durch wiederkehrende Infektionen bemerkbar machen (Ref. 2; Reviews: Ref. 3, 4). Das BN ProSpec erlaubt eine vollautomatische, schnelle und quantitative Bestimmung der Präzipitationsreaktion zur Proteinbestimmung.

3 TESTPRINZIP

Die Nephelometrie beruht auf der Messung von Streulicht, das durch lösliche Partikel in einer Lösung erzeugt wird. Dieses Prinzip kann für die Messung von löslichen Antigenen angewendet werden, da sie mit dem entsprechenden spezifischen Antikörper reagieren und einen unlöslichen Antigen-Antikörper-Komplex (Immunkomplex) bilden. Diese Immunkomplexe streuen in die Lösung eingestrahltes Licht und wenn der Antikörper im Überschuss vorliegt, ist die Lichtstreuung direkt proportional zur Antigenkonzentration. Durch Messung eines verschieden verdünnten Standards mit bekannter Antigenkonzentration wird eine Kalibrationskurve erstellt. Die Antigenkonzentration von unbekannten Proben wird nach Messung direkt an Hand der Kalibrationskurve ermittelt.

Latex-verstärkte Antikörper: Bei einigen Antigen-Antikörper-Reaktionen werden nicht genügend große Immunkomplexe gebildet und diese können daher nicht nephelometrisch bestimmt werden. Ist der Antikörper an ein Latexpartikel mit geeigneter Größe gekoppelt, kann der so geformte Immunkomplex ausreichend Licht streuen. Jetzt ist das Antigen der nephelometrischen Bestimmung zugänglich.

4 REAGENZIEN

4.1 Human IgG1-/IgG2-Antiserum. Diese Antiseren sind monospezifisch für die jeweilige Subklasse und liegen als stabilisierte Flüssigkeit vor. Enthaltene Konservierungsmittel: 0,099% Natriumazid, 0,1% E-aminocapronsäure (EACA), 0,5% BSA und 0,01% Benzamidin.

4.2 Human IgG3-/ IgG4-Latex-Reagenz. Diese Latex-Reagenzien sind monospezifisch für die jeweilige Subklasse und liegen als stabilisierte Flüssigkeit vor. Enthaltene Konservierungsmittel: 0,033% Natriumazid, 0,05% ProClin™*, 0,1% EACA und 0,01% Benzamidin.

4.3 Kalibratoren und Kontrollen. Sie werden aus gepooltem Humanserum hergestellt und liegen als stabilisierte Flüssigkeiten vor. Enthaltene Konservierungsmittel: 0,099% Natriumazid, 0,1% (EACA) und 0,01% Benzamidin. Der Wert von IgG Subklassen wurde durch Vergleich mit dem internationalen CRM470-Referenzmaterial ermittelt (Ref. 5)

4.4 B.S. Zusatzreagenz. Enthaltene Konservierungsmittel: 0,099% Natriumazid.

ProClin™ ist ein Warenzeichen von Rohm and Haas Corp., Philadelphia, PA.

5 WARNUNGEN UND VORSICHTSMAßNAHMEN

Jede Einzelspende von humanem Serum wurde untersucht und bezüglich Antikörper gegen das Human-Immunschwäche-Virus (HIV 1 & 2), das Hepatitis-C-Virus und gegen das Hepatitis-B-Oberflächenantigen (HBsAG) als negativ befunden. Die hierfür verwendeten Tests sind für den Gebrauch in der *in vitro* Diagnostik in der EU freigegeben (Directive 98/79/EC, Annex II). Es gibt aber zur Zeit keine absolut sicheren Testmethoden zum Auschluss dieser und anderer Infektionsträger. Umgangs- und Entsorgungsmethoden sollten denen für potentiell infektiösem Material entsprechen (inklusive dem Tragen entsprechender Schutzkleidung). Der Test sollte nur von entsprechend geschultem Personal durchgeführt werden.

ACHTUNG: Dieses Produkt enthält Natriumazid und ProClin 300 und muss mit den entsprechenden Vorsichts-maßnahmen behandelt werden. Das Tragen von Handschuhen und anderer Schutzkleidung wird während des Umgangs mit diesem Produkt empfohlen. Verschlucken sowie Kontakt mit Haut (v.a. bei Verletzungen) oder Schleimhäuten vermeiden. Nach Kontakt Hautstelle mit viel Wasser abspülen und ärztlichen Rat einholen. Natriumazid kann mit Blei- oder Kupferrohren explosive Metallazide bilden. Nach der Entsorgung mit ausreichender Menge Wasser, nachspülen um Azidablagerungen zu vermeiden.

Dieser Test sollte nur für den angegebenen Verwendungszeck von entsprechend geschultem Laborpersonal durchgeführt werden. Die Einhaltung der Arbeitsanleitung bei allen Arbeitsschritten ist dringend notwendig. Bei Verwendung von abgeänderten Testparametern kann die Richtigkeit der Ergebnisse nicht garantiert werden.

Reagenzien unterschiedlicher Chargen dürfen **NICHT** untereinander gemischt oder gemeinsam verwendet werden. Bei großem Testdurchsatz muss darauf geachtet werden, dass alle Reagenzien der gleichen Charge entstammen.

6 LAGERUNG UND STABILITÄT

Die ungeöffneten Kits sind bei 2-8°C bis zum auf dem Außenetikett angegebenen Verfallsdatum haltbar. Ungeöffnete Reagenzien, Kalibratoren und Kontrollen bei 2-8°C lagern. Nach dem Öffnen sind sie 4 Wochen bei 2-8°C stabil. Reagenzien so lagern, dass keine Verdunstung oder Verunreinigung stattfinden kann. Offene Flaschen nach Gebrauch nicht im Gerät stehen lassen.
Während der Lagerung kann in den noch ungeöffneten Antiseren ein Niederschlag oder eine Trubüng entstehen. Dies wird nicht durch mikrobielle Kontamination verursacht und beeinflusst die Aktivität des Antiserums nicht. In solchen Fällen das Antiserum durch Filtration durch einen Einweg-Filter mit der Porengröβe von 0,2 µm oder Zentrifugation (ca. 10 min. bei 15000g) klaren.

7 PROBENENTNAHME UND –VORBEREITUNG

Immer frisches oder tiefgefrorenes Serum verwenden. Blutproben über Venenpunktur sammeln und auf natürliche Weise gerinnen lassen. Serum so schnell wie möglich vom Gerinnsel trennen um eine Hämolyse zu vermeiden.
Die Seren können bei 2-8°C bis zu 8 Tagen vor dem Test gelagert werden. Für eine längere Lagerung empfiehlt es sich, die Seren unverdünnt bei mindestens -20°C einzufrieren. Wiederholtes Einfrieren und Auftauen vermeiden.
Keine mikrobiell oder mit Partikeln verunreinigte Seren, oder hämolytische oder lipämische Seren verwenden.

8 TESTDURCHFÜHRUNG

8.1 Gelieferte Materialien für Kombi-Kit, Bestell-Nr. LK001.P

8.1.1 2 x 1mL *BS IgG Sub Std* (Human IgG-Subklassen-Kalibrator)
8.1.2 2 x 1mL *BS IgG Sub Low Control* (Human IgG-Subklassen-Kontrolle 'Low Level')
8.1.3 2 x 1mL *BS IgG Sub Control* (Human IgG-Subklassen-Kontrolle 'High Level')
8.1.4 1 x 1,6mL *Human IgG1 BS Antiserum* (IgG1-Subklassen-Antiserum)
8.1.5 1 x 1,6mL *Human IgG2 BS Antiserum* (IgG2-Subklassen-Antiserum)
8.1.6 1 x 2,4mL *IgG3 BS Latex* (IgG3-Latex-Reagenz)
8.1.7 1 x 2,4mL *IgG4 BS Latex* (IgG4-Latex-Reagenz)
8.1.8 1 x 3mL *BS Supplementary Reagent L* (BS Supplementary Reagent L für die IgG3- und IgG4-Tests.

8.2 Bestell-Nr.: NK006.P, NK007.P, LK008.P, LK009.P

8.2.1 2 x 1mL *BS IgG Sub Std* (Human IgG-Subklassen-Kalibrator)
8.2.2 2 x 1mL *BS IgG Sub Low Control* (Human IgG Subklassen Kontrolle 'Low Level')
8.2.3 2 x 1mL *BS IgG Sub Control* (Human IgG Subklassen Kontrolle 'High Level')
8.2.4 4 x 1,6mL Antiserum oder 4 x 2,4mL Latexreagenz der jeweiligen-Subklasse
8.2.5 2 x 3mL *BS Supplementary Reagent L* (nur für LK008.P und LK009.P)

8.3 Benötigte, nicht im Kit enthaltene Materialien

8.3.1 Laborausstattung zum Sammeln und Vorbereiten der Proben (Probenröhrchen, Zentrifugen etc.)
8.3.2 Einen voll ausgestatteten und funktionsfähigen BN ProSpec

8.4 Testdurchführung

8.4.1 Der Anwender sollte mit dem BN ProSpec vertraut sein, bevor der Test durchgeführt wird.
8.4.2 Das Gerät wie im Handbuch des Herstellers beschrieben vorbereiten.
8.4.3 Die IgG-Subklassen-Testparameter werden im Gerät angelegt.
8.4.4 Für die Programmierung neuer Testparameter ist ein Siemens Mitarbeiter erforderlich.

IgG1

Assay-Details		
Assay-ID: 201	Name: G1	long name: TBS IgG1
Version: 100	Assayclass: Neph	Assaygroup: Serum
Result unit: mg/L	Sample dilution: 1:100	Min. dilution: 1:5
Evaluation:		
Measurement duration [1/10 sec.]: 3600	Measurement transfer: 2	
Evaluation method: 8 - Two point (BNII)	Meas window [1/10 sec.] from: 75	until: 3600
Blockmode: 0	Overflow: 0	
Calibration:		
Calibration method: LogitLog	Calibrator: 1306 - IgG Std	
Deviation[%]: 5%	Start dilution: 1:10	
Cal valid until: 100	Supporting points: 6	
Special parameters:		
Parameter 1: 2		

Controls:

Control ID	Name	Dilution	Deviation[%]	Level
0776	TBS IgG Sc.1	1:100	15	Medium
0975	TBS IgG Sc.2	1:100	15	Low

Transfers: 1		
Mixing: No mixing	Start wash: 06 - goto waste	End wash: 00 - normal
Incubation time[1/10sec.]: 0	Incubation delta [1/10sec.]: 0	
Medium 1:		
Type: SystemLiquid	Medium ID: Buffer	
Syringe profile: 7	Volume[µl]: 170	
Medium 2:		
Type: SystemLiquid	Medium ID: Air Bubble	
Syringe profile: 2	Volume[µl]: 2	
Medium 3:		
Type: Sample	Medium ID:	No Calib
Syringe profile: 3	Volume[µl]: 20	
Medium 4:		
Type: Destination	Medium ID:	
Syringe profile: 3	Volume[µl]: -92	

Transfers: 2		
Mixing: normal	Start wash: 06 - goto waste	End wash: 06 - park needle
Incubation time[1/10sec.]: 0	Incubation delta [1/10sec.]: 0	
Medium 1:		
Type: SystemLiquid	Medium ID: Buffer	
Syringe profile: 7	Volume[µl]: 170	
Medium 2:		
Type: SystemLiquid	Medium ID: Air Bubble	
Syringe profile: 2	Volume[µl]: 2	
Medium 3:		
Type: Reagent	Medium ID: 1301 - G1	No Calib
Syringe profile: 3	Volume[µl]: 40	
Medium 4:		
Type: Destination	Medium ID:	
Syringe profile: 6	Volume[µl]: -112	

IgG2

Assay-Details		
Assay-ID: 202	Name: G2	long name: TBS IgG2
Version: 100	Assayclass: Neph	Assaygroup: Serum
Result unit: mg/L	Sample dilution: 1:20	Min. dilution: 1:5
Evaluation:		
Measurement duration [1/10 sec.]: 3600	Measurement transfer: 2	
Evaluation method: 8 - Two point (BNII)	Meas window [1/10 sec.] from: 75	until: 3600
Blockmode: 0	Overflow: 0	
Calibration:		
Calibration method: LogitLog	Calibrator: 1306 - IgG Std	
Deviation[%]: 5%	Start dilution: 1:5	
Cal valid until: 100	Supporting points: 6	
Special parameters:		
Parameter 1: 2		

Controls:

Control ID	Name	Dilution	Deviation[%]	Level
0776	TBS IgG Sc.1	1:20	15	Medium
0975	TBS IgG Sc.2	1:20	15	Low

Transfers: 1		
Mixing: No mixing	Start wash: 06 - goto waste	End wash: 00 - normal
Incubation time[1/10sec.]: 0	Incubation delta [1/10sec.]: 0	
Medium 1:		
Type: SystemLiquid	Medium ID: Buffer	
Syringe profile: 7	Volume[µl]: 170	
Medium 2:		
Type: SystemLiquid	Medium ID: Air Bubble	
Syringe profile: 2	Volume[µl]: 2	
Medium 3:		
Type: Sample	Medium ID:	No Calib
Syringe profile: 3	Volume[µl]: 15	
Medium 4:		
Type: Destination	Medium ID:	
Syringe profile: 3	Volume[µl]: -87	

Transfers: 2		
Mixing: normal	Start wash: 06 - goto waste	End wash: 06 - park needle
Incubation time[1/10sec.]: 0	Incubation delta [1/10sec.]: 0	
Medium 1:		
Type: SystemLiquid	Medium ID: Buffer	
Syringe profile: 7	Volume[µl]: 170	
Medium 2:		
Type: SystemLiquid	Medium ID: Air Bubble	
Syringe profile: 2	Volume[µl]: 2	
Medium 3:		
Type: Reagent	Medium ID: 1302 - G2	No Calib
Syringe profile: 3	Volume[µl]: 40	
Medium 4:		
Type: Destination	Medium ID:	
Syringe profile: 6	Volume[µl]: -112	

IgG3

Assay-Details		
Assay-ID: 203	Name: G3L	long name: TBS LIgG3
Version: 100	Assayclass: Neph	Assaygroup: Serum
Result unit: mg/L	Sample dilution: 1:100	Min. dilution: 1:5
Evaluation:		
Measurement duration [1/10 sec.]: 3600	Measurement transfer: 2	
Evaluation method: 8 - Two point (BNII)	Meas window [1/10 sec.] from: 75	until: 3600
Blockmode: 0	Overflow: 0	
Calibration:		
Calibration method: LogitLog	Calibrator: 1306 - IgG Std	
Deviation[%]: 5%	Start dilution: 1:80	
Cal valid until: 100	Supporting points: 5	
Special parameters:		
Parameter 1: 2		

Controls:

Control ID	Name	Dilution	Deviation[%]	Level
0776	TBS IgG Sc.1	1:100	15	Medium
0975	TBS IgG Sc.2	1:100	15	Low

Transfers: 1		
Mixing: No mixing	Start wash: 06 - goto waste	End wash: 00 - normal
Incubation time[1/10sec.]: 0	Incubation delta [1/10sec.]: 0	
Medium 1:		
Type: SystemLiquid	Medium ID: Diluens	
Syringe profile: 7	Volume[µl]: 160	
Medium 2:		
Type: Reagent	Medium ID: 1305 - SRL	
Syringe profile: 2	Volume[µl]: 10	
Medium 3:		
Type: Sample	Medium ID:	No Calib
Syringe profile: 3	Volume[µl]: 20	
Medium 4:		
Type: Destination	Medium ID:	
Syringe profile: 3	Volume[µl]: -90	

Transfers: 2		
Mixing: normal	Start wash: 06 - goto waste	End wash: 06 - park needle
Incubation time[1/10sec.]: 0	Incubation delta [1/10sec.]: 0	
Medium 1:		
Type: SystemLiquid	Medium ID: Diluens	
Syringe profile: 7	Volume[µl]: 160	
Medium 2:		
Type: SystemLiquid	Medium ID: Air Bubble	
Syringe profile: 2	Volume[µl]: 2	
Medium 3:		
Type: Reagent	Medium ID: 1303 - G3L	No Calib
Syringe profile: 3	Volume[µl]: 50	
Medium 4:		
Type: Destination	Medium ID:	
Syringe profile: 6	Volume[µl]: -112	

IgG4

Assay-Details		
Assay-ID: 204	Name: G4L	long name: TBS LIgG4
Version: 100	Assayclass: Neph	Assaygroup: Serum
Result unit: mg/L	Sample dilution: 1:100	Min. dilution: 1:5
Evaluation:		
Measurement duration [1/10 sec.]: 3600	Measurement transfer: 2	
Evaluation method: 8 - Two point (BNII)	Meas window [1/10 sec.] from: 75	until: 3600
Blockmode: 0	Overflow: 0	
Calibration:		
Calibration method: LogitLog	Calibrator: 1306 - IgG Std	
Deviation[%]: 5%	Start dilution: 1:80	
Cal valid until: 100	Supporting points: 5	
Special parameters:		
Parameter 1: 2		

Controls:

Control ID	Name	Dilution	Deviation[%]	Level
0776	TBS IgG Sc.1	1:100	15	Medium
0975	TBS IgG Sc.2	1:100	15	Low

Transfers: 1
Mixing: No mixing | Start wash: 06 - goto waste | End wash: 00 - normal
Incubation time[1/10sec.]: 0 | Incubation delta [1/10sec.]: 0

Medium 1:
Type: SystemLiquid | Medium ID: Diluens
Syringe profile: 7 | Volume[µl]: 160

Medium 2:
Type: Reagent | Medium ID: 1305 - SRL
Syringe profile: 2 | Volume[µl]: 10

Medium 3:
Type: Sample | Medium ID: | No Calib
Syringe profile: 3 | Volume[µl]: 20

Medium 4:
Type: Destination | Medium ID:
Syringe profile: 3 | Volume[µl]: -90

Transfers: 2
Mixing: normal | Start wash: 06 - goto waste | End wash: 06 - park needle
Incubation time[1/10sec.]: 0 | Incubation delta [1/10sec.]: 0

Medium 1:
Type: SystemLiquid | Medium ID: Diluens
Syringe profile: 7 | Volume[µl]: 160

Medium 2:
Type: SystemLiquid | Medium ID: Air Bubble
Syringe profile: 2 | Volume[µl]: 2

Medium 3:
Type: Reagent | Medium ID: 1304 - G4L | No Calib
Syringe profile: 3 | Volume[µl]: 50

Medium 4:
Type: Destination | Medium ID:
Syringe profile: 6 | Volume[µl]: -112

8.5 Messbereich und Sensitivität

Spezifität	Ungefährer Messbereich		Ungefähre Sensitivität	
	mg/L	Probenver-dünnung	mg/L	Probenver-dünnung
IgG1	2625 - 84000	1/ 100	131	1/5
IgG2	613 – 19600	1/ 20	153	1/5
IgG3	55 – 875	1/ 100	2,7	1/5
IgG4	38 - 613	1/ 100	1,9	1/5

9 INTERPRETATION DER ERGEBNISSE

Qualitätskontrolle: Die IgG-Subklassen-Konzentrationen der Kontrollen sind auf dem jeweiligen Flaschenetikett angegeben. Der von dem BN ProSpec gemessene Wert sollte maximal ± 15 % vom angegebenen Wert abweichen.

10 GRENZEN DES TESTS

10.1 Die nephelometrische Bestimmung der IgG Subklassen korreliert bei einer großen Probenzahl sehr gut zur Binding Site IgG Subklassen Single Dilution RID Methode.

10.2 Dieser Kit ist nicht für die Bestimmung von lipämischen oder hämolysierten Proben, oder Proben, die Rheumafaktoren, Paraproteine oder andere zirkulierende Immunkomplexe enthalten, geeignet, da diese Proben einen nicht vorhersagbaren Anteil an unspezifischen Streulicht erzeugen können. Ungewöhnliche Ergebnisse sollten mit einer alternativen Methode überprüft werden.

10.3 Es wird dringend empfohlen, dass bei jedem Testansatz beide Kontrollen mitgeführt werden. Wird eine gespeicherte Kalibrationskurve verwendet und eine der Kontrollen liegt nicht im Vertrauensbereich, sollte der Test neu kalibriert werden. Weicht die Kontrolle weiterhin mehr als ±15% vom Sollwert ab, sollte vor einer erneuten Testdurchführung das Gerät überprüft werden. Kann das Problem so nicht gelöst werden, wenden Sie sich bitte an ihre Lieferfirma.

10.4 Die IgG-Subklassen-Ergebnisse sollten nicht zur Diagnose einer Atopie bei Allergie-Patienten verwendet werden.

10.5 Die Diagnose und Einleitung einer Therapie dürfen nicht ausschließlich auf der IgG-Subklassen-Bestimmung basieren. Das klinische Bild und andere serologische Befunde müssen ebenfalls berücksichtigt werden.

11 ERWARTETE WERTE

11.1 Erwachsene

Die unten aufgeführten Normalbereiche basieren auf der Untersuchung eines gesunden Blutspenderkollektivs aus Großbritannien mit diesen Kits und dienen nur zur Orientierung. Es wird empfohlen eigene Normalbereiche zu bestimmen.

IgG Subklasse	Anzahl (n)	Mittelwert (mg/L)	Median (mg/L)	95%Ile Bereich (mg/L)
IgG1	30	6330	6085	3824 – 9286
IgG2	30	4528	4541	2418 – 7003
IgG3	30	790.7	706.4	218.2 –1760.6
IgG4	30	280.0	215.3	39.2 – 864.0

11.2 Kinder

Diese Werte wurden mittels Radialer Immundiffusion (The Binding Site 'Single Dilution') ermittelt. Die Seren der Kinder wurden in einem Krankenhaus von Birmingham (England) gesammelt. Alle Angaben sind in mg/L.

0-2 Jahre	Anzahl	Mittelwert	95%ile Bereich
IgG1	39	5248	1940 – 8420
IgG2	39	838	225 – 3000
IgG3	39	445	186 – 853
IgG4	39	129	5 – 784
Total IgG	39	6640	3270 – 12700
2-4 Jahre			
IgG1	36	5495	3150 – 9450
IgG2	36	1146	360 – 2250
IgG3	36	396	173 – 676
IgG4	36	171	10 – 537
Total IgG	36	7770	4680 – 12500
4-6 Jahre			
IgG1	49	6149	3060 – 9450
IgG2	49	1496	605 – 3450
IgG3	49	531	99 – 1221
IgG4	49	329	18 – 1125
Total IgG	49	9280	5320 - 13400
6-8 Jahre			
IgG1	43	5758	2880 – 9180
IgG2	43	1754	440 – 3750
IgG3	43	437	155 – 853
IgG4	43	331	4 – 992
Total IgG	43	8860	4540 – 13600
8-10 Jahre			
IgG1	32	6345	4320 – 10200
IgG2	32	2126	720 – 4300
IgG3	32	521	127 – 853
IgG4	32	349	19 – 932
Total IgG	32	9700	5680 - 13600
10-12 Jahre			
IgG1	46	6421	4230 – 10600
IgG2	46	1980	760 – 3550
IgG3	46	620	173 – 1730
IgG4	46	323	16 – 1150
Total IgG	46	10200	5680 - 14900
12-14 Jahre			
IgG1	54	6581	3420 – 11500
IgG2	54	2486	1000 – 4550
IgG3	54	583	283 – 1250
IgG4	54	409	37 – 1360
Total IgG	54	10500	6640 – 14900
14-18 Jahre			
IgG1	48	6057	3150 – 8550
IgG2	48	2614	640 – 4950
IgG3	48	708	230 –1960
IgG4	48	521	110 – 1570
Total IgG	48	10100	5500 – 14400

12 LEISTUNGSDATEN

Die unten aufgeführten Leistungsdaten wurden auf einem Siemens BN™II* ermittelt, der nach dem gleichen Prinzip wie der BN ProSpec arbeitet, ermittelt.

12.1. Intra-Assay-Variation

Drei Serum-Präparationen mit unterschiedlichen IgG-Subklassen-Konzentrationen wurden 10 mal gemessen. Alle Konzentrationsangaben sind in mg/L.

	IgG1		IgG2		IgG3		IgG4	
	Mittelwert	% VK	Mittelwert	% VK	Mittelwert	% VK	Mittelwert	% VK
Serum 1	40529	1.56	8256	2.59	668.6	2.74	534.1	3.05
Serum 2	12630	1.67	1736	2.16	517.8	2.76	396.1	2.95
Serum 3	3350	6.44	758.5	8.19	353.1	3.49	324.8	5.08

12.2 Inter-Assay-Variation

3 Serum-Präparationen mit unterschiedlichen IgG-Subklassen-Konzentrationen wurden an mindestens 3 verschiedenen Zeitpunkten bestimmt. Alle Konzentrationsangaben sind in mg/L. (N= Anzahl der Zeitpunkte)

	IgG1		IgG2		IgG3		IgG4	
	Mittelwert	% VK (N)	Mittelwert	% VK (N)	Mittelwert	% VK (N)	Mittelwert	% VK (N)
Serum 1	40765	4.38 (6)	7811	6.84 (6)	697.5	4.41 (3)	532.6	4.10 (3)
Serum 2	12402	2.39 (6)	1621	4.18 (6)	525.9	2.38 (4)	387.7	4.13 (3)
Serum 3	3043	6.95 (6)	780.1	2.43 (6)	353.1	3.00 (3)	319.6	4.38 (4)

∗ BN™ ist ein eingetragenes Warenzeichen von Siemens Healthcare Diagnostics, Inc.

13 REFERENZEN

1. Shakib, F & Stanworth D R (1980). Human IgG subclasses in health and disease (Part II). La Ricerca Clin. Lab. 10, 561-580.
2. Shackleford, P G, Polmar, S H et al. (1986). Spectrum of IgG2 subclass deficiency in children with recurrent infections: Prospective study. J. Pediatr. 108, 647-653.
3. Hamilton, R H (1987), Human IgG subclass measurements in the clinical laboratory. Clin. Chem. 33, 1707-1725.
4. Schur, P H (1987), IgG subclasses – a review. Annals of Allergy 58, 89-99.
5. Carr-Smith, H.D, Overton, J, Bradwell, A.R. (1997). IgG subclass value assignment to the protein reference preparation CRM470. Clin. Chem. Vol. 43, No 56, PS238.

REACTIFS LIQUIDES POUR LE DOSAGE DES SOUS-CLASSES D'IgG HUMAINES (pour une utilisation sur automate Siemens BN ProSpec®*)

Pour un usage en diagnostic *in vitro* uniquement

Référence : LK001.P
NK006.P, NK007.P, LK008.P, LK009.P

Produit fabriqué en Angleterre par la société :
The Binding Site Group Ltd, PO Box 11712, Birmingham B14 4ZB, U.K.
www.bindingsite.co.uk

Distribués en France par la société :
The Binding Site France, 14 rue des Glairaux, BP226, 38522 Saint-Egrève Cedex.
Téléphone : 04.38.02.19.19
Fax : 04.38.02.19.20
e-mail : info@bindingsite.fr

∗BN ProSpec® est une marque déposée de Siemens Healthcare Diagnostics, Inc.

CE

1 INDICATIONS

Ce coffret est destiné au dosage quantitatif des sous-classes 1, 2, 3 et 4 d'IgG dans le sérum humain par néphélémétrie en utilisant le néphélémètre BN ProSpec de la société Siemens. La mesure de ces immunoglobulines apporte une aide dans le diagnostic du métabolisme anormal des protéines et des problèmes de l'organisme à résister aux agents infectieux.

2 PRESENTATION GENERALE

Chez les sujets adultes en bonne santé, l'IgG représente environ 75% de la concentration en Immunoglobulines sériques totales. Dans la classe des IgG, les concentrations de chaque sous classe sont généralement dans l'ordre IgG1>IgG2>IgG3>IgG4, bien que la concentration effective de chaque sous classe puisse varier considérablement selon les individus.
Les quatre sous classes d'IgG présentent des différences considérables dans leurs propriétés, incluant la capacité de fixation du complément, de se lier aux macrophages et de passer la barrière placentaire. Des taux inusuels d'une ou plusieurs sous classes peuvent être associés à certaines pathologies comme l'anaphylaxie, les maladies autoimmunes, digestives, les hypo et hypergammaglobulinémies (réf. 1). En particulier, une diminution de synthèse de l'IgG2 chez l'enfant peut être associée à des infections récurrentes (réf 2). Cet aspect a été bien étudié (ref 3 et 4).
Le néphélémètre BN ProSpec permet le dosage rapide des protéines spécifiques par néphélémétrie.

3 PRINCIPE

La néphélémétrie permet la mesure de la lumière diffusée par des particules en solution. Ceci peut être appliqué à la mesure d'un antigène soluble si en présence d'un anticorps approprié des immun-complexes insolubles sont formés et dispersent la lumière. Lorsque l'anticorps est en excès, la lumière diffusée est directement proportionnelle à la concentration en antigène. Une courbe de calibration est établie en utilisant une série de calibrateurs dilués dont la concentration en antigène est connue. La concentration des sérums inconnus est alors calculée à partir de la courbe de calibration.

Réactif latex : Au cours de certaines réactions antigènes-anticorps, les complexes formés ne sont pas suffisamment gros pour être détectés en néphélémétrie. Si l'anticorps est coaté sur des particules de latex de taille suffisante, la capacité de diffraction des complexes immuns formés avec l'antigène est alors suffisamment augmentée pour permettre la détection néphélémétrique.

4 REACTIFS

4.1 Antisérums IgG1/IgG2. Ils sont monospécifiques pour la sous-classe humaine appropriée. Ils sont fournis sous forme liquide et contiennent 0,099% d'azide de sodium, 0,1% d'acide E-amino-n-caproique (EACA), 0,5% BSA et 0,01% benzamidine comme conservateurs.

4.2 Réactif IgG3/IgG4 Ils sont monospécifiques pour la sous-classe appropriée et sont fournis sous forme iquide. Ils contiennent 0,033% d'azide de sodium, 0,05% ProClin™*, 0,1% EACA et 0,01% benzamidine comme conservateurs.

4.3 Calibrateurs et controles Ils sont préparés à partir de pools de sérum humains, et sont fournis sous forme liquide et stable. Ils contiennent 0,099% d'azide de sodium, 0,1% d'EACA et 0,01% de benzamidine comme conservateurs. La concentration en sous-classes d'IgG indiquée sur les étiquettes des flacons ont été obtenues par comparaison avec la référence internationale CRM 470 (réf. 5)

4.4 Réactif supplémentaire Il contient 0,099% d'azide de sodium comme conservateur.

**ProClin est une marque deposée par Rohm and Haas Corp. Philadelphia PA.*

5 PRECAUTIONS

Tous les sérums humains fournis dans ce coffret ont été testés et trouvés négatifs pour l'antigène de surface de l'hépatite B (Ag HBs), pour le virus de l'hépatite C et pour les anticorps anti-virus de l'immunodéficience humaine (HIV1 and HIV2). Les tests utilisés ont soit été approuvés par la FDA (USA) ou accepté pour un usage en diagnostic *in-vitro* par l'union européenne (Directive 98/79/EC, Annexe II); néanmoins ces tests ne peuvent garantir l'absence d'agents infectieux Tous les échantillons doivent donc être manipulés comme des produits potentiellement infectieux. Seul un personnel qualifié dans la manipulation d'échantillons potentiellement infectieux est autorisé à utiliser ce coffret.

ATTENTION: Ce produit contient de l'azide de sodium et ProClin 300 et doit être manipulé avec précaution; des gants appropriés et d'autres vêtements de protection doivent être portés lors de toutes manipulation. Ne pas ingérer ou avoir de contact avec la peau (spécialement sur les zones abîmées) ou des muqueuses. S'il y a contact, laver abondamment avec de l'eau et demander un avis médical. Des azides de métaux explosifs peuvent se former par contact prolongé entre de l'azide de sodium et les tuyauteries en plomb et cuivre; pour éliminer les réactifs, rincer avec un large volume d'eau pour prévenir tout dégât.

Ce produit ne doit être utilisé que par du personnel entrainé. Le suivi de ces instructions est essentiel. Les résultats seront considérés comme invalides si d'autres paramètres autres que ceux ci sont utilisés.

Les réactifs de différents lots **NE SONT PAS** interchangeables. Si un nombre important de tests est réalisé, des précautions doivent être prises pour s'assurer que les réactifs utilisés sont issus du même lot.

6 STOCKAGE ET STABILITE

Les coffrets non ouverts doivent être conservés entre 2 et 8°C et peuvent être utilisés jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'étiquette de la boîte. Les réactifs non ouverts, calibrateurs et contrôles doivent être gardés à 2-8°C. Après ouverture, ils sont stables quatre semaines à 2-8°C s'ils ne sont pas contaminés ou évaporés. Il est recommandé de ne pas laisser les flacons d'antisérum ouverts sur les néphélémètres à température ambiante en dehors de leur utilisation.
Au cours du temps, les flacons d'antisérums non ouverts peuvent développer un précipité ou un trouble qui n'est dû à une contamination bacterienne et qui n'affecte pas l'activité de l'antiserum. Dans de telles situations, l'antisérum doit être clarifié par filtration à travers un filtre ayant des pores de 0,2 µm ou par centrifugation (approximativement 10 minutes à 15000g).

7 PRELEVEMENT ET PREPARATION DE L'ECHANTILLON

Utiliser des sérums fraîchement prélevés ou congelés. Les prélévements sanguins doivent être collectés par ponction veineuse, le caillot doit se former naturellement et le sérum doit être récupéré le plus rapidement possible pour éviter l'hémolyse.
Le sérum peut être stocké 8 jours à 2-8°C avant le test ou à -20°C ou à une température inférieure pour un stockage prolongé du sérum non dilué. Les congélations et décongélations successives peuvent abimer le sérum.
Les sérums lipidiques, hémolysés, comtaminés par des microbes ou contenant des particules de matière ne doivent pas être utilisés.

8 METHODOLOGIE

8.1 Materiel fourni dans le coffret LK001.P

8.1.1 2 x 1mL *BS IgG Sub Std* (Standard sous-classes d'IgG)
8.1.2 2 x 1mL *BS IgG Sub Low Control* (Contrôle bas sous-classes d'IgG)
8.1.3 2 x 1mL *BS IgG Sub Control* (Contrôle haut sous-classes d'IgG)
8.1.4 1 x 1,6mL *Human IgG1 BS Antiserum* (antisérum pour IgG1)
8.1.5 1 x 1,6mL *Human IgG2 BS Antiserum* (antisérum pour IgG2)
8.1.6 1 x 2,4mL *IgG3 BS Latex* (Réactif latex pour IgG3)
8.1.7 1 x 2,4mL *IgG4 BS Latex* (Réactif latex pour IgG4)
8.1.8 1 x 3mL *BS Supplementary Reagent L* (BS Réactif Supplémentaire L pour IgG3 et IgG4)

8.2 Références : NK006.P, NK007.P, LK008.P et LK009.P

8.2.1 2 x 1mL *BS IgG Sub Std* (Standard sous-classes d'IgG)
8.2.2 2 x 1mL *BS IgG Sub Low Control* (Contrôle bas sous-classes d'IgG)
8.2.3 2 x 1mL *BS IgG Sub Control* (Contrôle haut sous-classes d'IgG)
8.2.4 4 x 1,6mL antisérum ou 4 x 2,4mL de réactif latex de la sous-classe appropriée.
8.2.5 2 x 3mL *BS Supplementary Reagent L* (BS Réactif Supplémentaire L dans les coffrets LK008.P et LK009.P uniquement)

8.3 Materiel necessaire et non fourni

8.3.1 Matériel pour le prélèvement et la préparation des échantillons.
8.3.2 Analyseur complet.

8.4 Procedure

8.4.1 L'utilisateur doit être familié avec le BN ProSpec avant d'utiliser cette procédure.
8.4.2 Préparer l'automate comme indiqué dans le manuel d'utilisation.
8.4.3 Les protocoles de tests des sous-classes d'IgG sont à définir dans l'automate.
8.4.4 Un ingénieur d'application de chez Siemens doit intervenir pour la création de nouveaux protocoles de tests.

IgG1

Assay-Details

Assay-ID: 201	Name: G1	long name: TBS IgG1	
Version: 100	Assayclass: Neph	Assaygroup: Serum	
Result unit: mg/L	Sample dilution: 1:100	Min. dilution: 1:5	

Evaluation:

Measurement duration [1/10 sec.]: 3600	Measurement transfer: 2	
Evaluation method: 8 - Two point (BNII)	Meas window [1/10 sec.] from: 75	until: 3600
Blockmode: 0	Overflow: 0	

Calibration:

Calibration method: LogitLog	Calibrator: 1306 - IgG Std
Deviation[%]: 5%	Start dilution: 1:10
Cal valid until: 100	Supporting points: 6

Special parameters:
Parameter 1: 2

Controls:

Control ID	Name	Dilution	Deviation[%]	Level
0776	TBS IgG Sc.1	1:100	15	Medium
0975	TBS IgG Sc.2	1:100	15	Low

Transfers: 1

Mixing: No mixing	Start wash: 06 - goto waste	End wash: 00 - normal
Incubation time[1/10sec.]: 0	Incubation delta [1/10sec.]: 0	

Medium 1:

Type: SystemLiquid	Medium ID: Buffer
Syringe profile: 7	Volume[µl]: 170

Medium 2:

Type: SystemLiquid	Medium ID: Air Bubble
Syringe profile: 2	Volume[µl]: 2

Medium 3:

Type: Sample	Medium ID:	No Calib
Syringe profile: 3	Volume[µl]: 20	

Medium 4:

Type: Destination	Medium ID:
Syringe profile: 3	Volume[µl]: -92

Transfers: 2

Mixing: normal	Start wash: 06 - goto waste	End wash: 06 - park needle
Incubation time[1/10sec.]: 0	Incubation delta [1/10sec.]: 0	

Medium 1:

Type: SystemLiquid	Medium ID: Buffer
Syringe profile: 7	Volume[µl]: 170

Medium 2:

Type: SystemLiquid	Medium ID: Air Bubble
Syringe profile: 2	Volume[µl]: 2

Medium 3:

Type: Reagent	Medium ID: 1301 - G1	No Calib
Syringe profile: 3	Volume[µl]: 40	

Medium 4:

Type: Destination	Medium ID:
Syringe profile: 6	Volume[µl]: -112

IgG2

Assay-Details
Assay-ID: 202 | Name: G2 | long name: TBS IgG2
Version: 100 | Assayclass: Neph | Assaygroup: Serum
Result unit: mg/L | Sample dilution: 1:20 | Min. dilution: 1:5
Evaluation:
Measurement duration [1/10 sec.]: 3600 | Measurement transfer: 2
Evaluation method: 8 - Two point (BNII) | Meas window [1/10 sec.] from: 75 until: 3600
Blockmode: 0 | Overflow: 0
Calibration:
Calibration method: LogitLog | Calibrator: 1306 - IgG Std
Deviation[%]: 5% | Start dilution: 1:5
Cal valid until: 100 | Supporting points: 6
Special parameters:
Parameter 1: 2
Controls:

Control ID	Name	Dilution	Deviation[%]	Level
0776	TBS IgG Sc.1	1:20	15	Medium
0975	TBS IgG Sc.2	1:20	15	Low

Transfers: 1
Mixing: No mixing | Start wash: 06 - goto waste | End wash: 00 - normal
Incubation time[1/10sec.]: 0 | Incubation delta [1/10sec.]: 0
Medium 1:
Type: SystemLiquid | Medium ID: Buffer
Syringe profile: 7 | Volume[µl]: 170
Medium 2:
Type: SystemLiquid | Medium ID: Air Bubble
Syringe profile: 2 | Volume[µl]: 2
Medium 3:
Type: Sample | Medium ID: | No Calib
Syringe profile: 3 | Volume[µl]: 15
Medium 4:
Type: Destination | Medium ID:
Syringe profile: 3 | Volume[µl]: -87

Transfers: 2
Mixing: normal | Start wash: 06 - goto waste | End wash: 06 - park needle
Incubation time[1/10sec.]: 0 | Incubation delta [1/10sec.]: 0
Medium 1:
Type: SystemLiquid | Medium ID: Buffer
Syringe profile: 7 | Volume[µl]: 170
Medium 2:
Type: SystemLiquid | Medium ID: Air Bubble
Syringe profile: 2 | Volume[µl]: 2
Medium 3:
Type: Reagent | Medium ID: 1302 - G2 | No Calib
Syringe profile: 3 | Volume[µl]: 40
Medium 4:
Type: Destination | Medium ID:
Syringe profile: 6 | Volume[µl]: -112

IgG3

Assay-Details
Assay-ID: 203 | Name: G3L | long name: TBS LIgG3
Version: 100 | Assayclass: Neph | Assaygroup: Serum
Result unit: mg/L | Sample dilution: 1:100 | Min. dilution: 1:5
Evaluation:
Measurement duration [1/10 sec.]: 3600 | Measurement transfer: 2
Evaluation method: 8 - Two point (BNII) | Meas window [1/10 sec.] from: 75 until: 3600
Blockmode: 0 | Overflow: 0
Calibration:
Calibration method: LogitLog | Calibrator: 1306 - IgG Std
Deviation[%]: 5% | Start dilution: 1:80
Cal valid until: 100 | Supporting points: 5
Special parameters:
Parameter 1: 2
Controls:

Control ID	Name	Dilution	Deviation[%]	Level
0776	TBS IgG Sc.1	1:100	15	Medium
0975	TBS IgG Sc.2	1:100	15	Low

Transfers: 1
Mixing: No mixing | Start wash: 06 - goto waste | End wash: 00 - normal
Incubation time[1/10sec.]: 0 | Incubation delta [1/10sec.]: 0
Medium 1:
Type: SystemLiquid | Medium ID: Diluens
Syringe profile: 7 | Volume[µl]: 160
Medium 2:
Type: Reagent | Medium ID: 1305 - SRL
Syringe profile: 2 | Volume[µl]: 10
Medium 3:
Type: Sample | Medium ID: | No Calib
Syringe profile: 3 | Volume[µl]: 20
Medium 4:
Type: Destination | Medium ID:
Syringe profile: 3 | Volume[µl]: -90

Transfers: 2
Mixing: normal | Start wash: 06 - goto waste | End wash: 06 - park needle
Incubation time[1/10sec.]: 0 | Incubation delta [1/10sec.]: 0
Medium 1:
Type: SystemLiquid | Medium ID: Diluens
Syringe profile: 7 | Volume[µl]: 160
Medium 2:
Type: SystemLiquid | Medium ID: Air Bubble
Syringe profile: 2 | Volume[µl]: 2
Medium 3:
Type: Reagent | Medium ID: 1303 - G3L | No Calib
Syringe profile: 3 | Volume[µl]: 50
Medium 4:
Type: Destination | Medium ID:
Syringe profile: 6 | Volume[µl]: -112

IgG4

Assay-Details
Assay-ID: 204 | Name: G4L | long name: TBS LIgG4
Version: 100 | Assayclass: Neph | Assaygroup: Serum
Result unit: mg/L | Sample dilution: 1:100 | Min. dilution: 1:5
Evaluation:
Measurement duration [1/10 sec.]: 3600 | Measurement transfer: 2
Evaluation method: 8 - Two point (BNII) | Meas window [1/10 sec.] from: 75 until: 3600
Blockmode: 0 | Overflow: 0
Calibration:
Calibration method: LogitLog | Calibrator: 1306 - IgG Std
Deviation[%]: 5% | Start dilution: 1:80
Cal valid until: 100 | Supporting points: 5
Special parameters:
Parameter 1: 2
Controls:

Control ID	Name	Dilution	Deviation[%]	Level
0776	TBS IgG Sc.1	1:100	15	Medium
0975	TBS IgG Sc.2	1:100	15	Low

Transfers: 1
Mixing: No mixing | Start wash: 06 - goto waste | End wash: 00 - normal
Incubation time[1/10sec.]: 0 | Incubation delta [1/10sec.]: 0
Medium 1:
Type: SystemLiquid | Medium ID: Diluens
Syringe profile: 7 | Volume[µl]: 160
Medium 2:
Type: Reagent | Medium ID: 1305 - SRL
Syringe profile: 2 | Volume[µl]: 10
Medium 3:
Type: Sample | Medium ID: | No Calib
Syringe profile: 3 | Volume[µl]: 20
Medium 4:
Type: Destination | Medium ID:
Syringe profile: 3 | Volume[µl]: -90

Transfers: 2
Mixing: normal | Start wash: 06 - goto waste | End wash: 06 - park needle
Incubation time[1/10sec.]: 0 | Incubation delta [1/10sec.]: 0
Medium 1:
Type: SystemLiquid | Medium ID: Diluens
Syringe profile: 7 | Volume[µl]: 160
Medium 2:
Type: SystemLiquid | Medium ID: Air Bubble
Syringe profile: 2 | Volume[µl]: 2
Medium 3:
Type: Reagent | Medium ID: 1304 - G4L | No Calib
Syringe profile: 3 | Volume[µl]: 50
Medium 4:
Type: Destination | Medium ID:
Syringe profile: 6 | Volume[µl]: -112

8.5 Gamme de mesure et sensibilite

Spécificité	Gamme de mesure		Sensibilité	
	mg/L	Dilution échantillon	mg/L	Dilution échantillon
IgG1	2625-84000	1/100	131	1/5
IgG2	613-19600	1/20	153	1/5
IgG3	55 – 875	1/100	2,7	1/5
IgG4	38 - 613	1/100	1,9	1/5

9 INTERPRETATION DES RESULTATS

Contrôle de qualité: Les concentrations des contrôles sont indiquées sur l'étiquette du flacon. Les résultats seront corrects si la valeur obtenue diffère au maximum de 15 % par rapport à la valeur cible.

10 LIMITES

10.1 Il existe une bonne corrélation entre les dosages néphélémètriques et les dosages en immunodiffusion radiale et ceci avec un grand nombre d'échantillons.

10.2 Cependant les performances de ce coffret ne peuvent être garanties pour des échantillons contenant des concentrations élevées en paraprotéines ou complexes immuns circulants, facteur rhumatoïde ou pour des sérums hémolysés ou lipidiques. Ces sérums ne peuvent être dosés par cette technique à cause de la déviation de lumière non spécifique intrinsèque à ce type d'échantillons. Des résultats surprenants doivent être confirmés par une autre méthode.

10.3 Il est fortement recommandé aux utilisateurs de passer les deux contrôles lors de chaque série. Si une valeur obtenue à partir d'une courbe de calibration enregistrée est en dehors des valeurs attendues, la calibration doit être refaite. Si les valeurs des controles présentent une variation suppérieure à ±15% par rapport aux valeurs attendues, vérifier l'instrument avant de répéter l'essai. Si le problème persiste, contacter le fournisseur.

10.4 Les résultats du dosage des sous-classes ne doivent pas être utilisés chez les sujets allergiques lors de maladies atopiques.

10.5 Le diagnostic et le traitement ne peuvent pas être uniquement basés sur le dosage des sous-classes d'IgG. La clinique et les autres résultats du laboratoire doivent être pris en compte.

11 VALEURS ATTENDUES

Les valeurs ci-dessous ont été obtenues à partir d'une population limitée de sujets sains britanniques. Elles sont données à titre indicatif. Il est fortement conseillé à chaque laboratoire d'établir ses propres normes.

11.1 Adultes

Sous-classes IgG	Nombre (n)	Moyenne (mg/L)	Médiane (mg/L)	Gamme 95% percentile (mg/L)
IgG1	30	6330	6085	3824 – 9286
IgG2	30	4528	4541	2418 – 7003
IgG3	30	790.7	706.4	218.2 –1760.6
IgG4	30	280.0	215.3	39.2 – 864.0

11.2 Enfants

Ces valeurs ont été obtenues en mesurant les IgG totales et les sous-classes en utilisant des sérums pédiatriques provenant de l'hôpital de Birmingham. Les résultats ci-dessous ont été obtenus en immunodiffusion radiale (mg/L). Toutes les concentrations sont en mg/L.

0-2 ans	n	Moyenne	Gamme 95% percentile
IgG1	39	5248	1940 – 8420
IgG2	39	838	225 – 3000
IgG3	39	445	186 – 853
IgG4	39	129	5 – 784
Total IgG	39	6640	3270 – 12700
2-4 ans			
IgG1	36	5495	3150 – 9450
IgG2	36	1146	360 – 2250
IgG3	36	396	173 – 676
IgG4	36	171	10 – 537
Total IgG	36	7770	4680 – 12500
4-6 ans			
IgG1	49	6149	3060 – 9450
IgG2	49	1496	605 – 3450
IgG3	49	531	99 – 1221
IgG4	49	329	18 – 1125
Total IgG	49	9280	5320 - 13400
6-8 ans			
IgG1	43	5758	2880 – 9180
IgG2	43	1754	440 – 3750
IgG3	43	437	155 – 853
IgG4	43	331	4 – 992
Total IgG	43	8860	4540 – 13600
8-10 ans			
IgG1	32	6345	4320 – 10200
IgG2	32	2126	720 – 4300
IgG3	32	521	127 – 853
IgG4	32	349	19 – 932
Total IgG	32	9700	5680 - 13600

10-12 ans			
IgG1	46	6421	4230 – 10600
IgG2	46	1980	760 – 3550
IgG3	46	620	173 – 1730
IgG4	46	323	16 – 1150
Total IgG	46	10200	5680 - 14900
12-14 ans			
IgG1	54	6581	3420 – 11500
IgG2	54	2486	1000 – 4550
IgG3	54	583	283 – 1250
IgG4	54	409	37 – 1360
Total IgG	54	10500	6640 – 14900
14-18 ans			
IgG1	48	6057	3150 – 8550
IgG2	48	2614	640 – 4950
IgG3	48	708	230 –1960
IgG4	48	521	110 – 1570
Total IgG	48	10100	5500 – 14400

12 PERFORMANCES

Les performances indiquées ci-dessous sont des données générées sur l'automate BN™II de Siemens qui fonctionne de la même façon que le BN ProSpec.

12.1 Précision intra-essai

Trois sérums contenant des taux différents de sous-classes d'IgG ont été testés 10 fois. Toutes les concentrations sont exprimées en mg/L.

	IgG1		IgG2		IgG3		IgG4	
	Moy	CV %	Moy	CV %	Moy	CV %	Moy	CV %
Sérum 1	40529	1,56	8256	2,59	668,6	2,74	534,1	3,05
Sérum 2	12630	1,67	1736	2,16	517,8	2,76	396,1	2,95
Sérum 3	3350	6,44	758,5	8,19	353,1	3,49	324,8	5,08

12.2 Précision inter-essai

Trois sérums contenant des taux différents de sous-classes d'IgG ont été testés au cours de trois séries différentes. Toutes les concentrations sont exprimées en mg/L. (N= nombre d'essais).

	IgG1		IgG2		IgG3		IgG4	
	Moy.	CV %	Moy.	CV %	Moy.	CV %	Moy.	CV %
Sérum 1	40765	4,38 (6)	7811	6,84 (6)	697,5	4,41 (3)	532,6	4,10 (3)
Sérum 2	12402	2,39 (6)	1621	4,18 (6)	525,9	2,38 (4)	387,7	4,13 (3)
Sérum 3	3043	6,95 (6)	780,1	2,43 (6)	353,1	3,00 (3)	319,6	4,38 (4)

∗BN™ est une marque déposée de Siemens Healthcare Diagnostics, Inc.

13 BIBLIOGRAPHIE

1. Shakib, F & Stanworth D R (1980). Human IgG subclasses in health and disease (Part II). La Ricerca Clin. Lab. 10, 561-580.
2. Shackleford, P G, Polmar, S H et al. (1986). Spectrum of IgG2 subclass deficiency in children with recurrent infections: Prospective study. J. Pediatr. 108, 647-653.
3. Hamilton, R H (1987), Human IgG subclass measurements in the clinical laboratory. Clin. Chem. 33, 1707-1725.
4. Schur, P H (1987), IgG subclasses – a review. Annals of Allergy 58, 89-99.
5. Carr-Smith, H.D, Overton, J, Bradwell, A.R. (1997). IgG subclass value assignment to the protein reference preparation CRM470. Clin. Chem. Vol. 43, No 56, PS238.

KITS REACTIVOS LÍQUIDOS SUBCLASES IgG HUMANA (para uso en el analizador Siemens BN ProSpec®*)

Para uso diagnóstico *in-vitro* únicamente

Código: LK001.P NK006.P, NK007.P, LK008.P, LK009.P

Producto fabricado por:
The Binding Site Group Ltd, PO Box 11712, Birmingham B14 4ZB, U.K.
www.bindingsite.co.uk

The Binding Site Spain S.L.U.,
C/ Balmes 243 4º 3ª, 08006 Barcelona
Teléfono 902027750
Fax: 902027752
e-mail: info@bindingsite.es
web: www.bindingsite.es

*BN ProSpec® e una marca registrada de Siemens Healthcare Diagnostics Inc.

CE

1 UTILIZACIÓN

Este kit está preparado para la cuantificación de las subclases IgG 1, 2, 3 y 4 humanas en suero en el analizador BN ProSpec. La medida de estas inmunoglobulinas ayuda en el diagnóstico del metabolismo anormal de proteínas y la incapacidad del organismo en su resistencia frente a agentes infecciosos

2 RESUMEN Y EXPLICACIÓN

La IgG en adultos normales supone aproximadamente el 75% de las inmunoglobulinas séricas totales. Dentro de la clase IgG, el orden habitual de concentración de las 4 subclases es IgG1>IgG2>IgG3>IgG4, aunque la concentración real puede variar mucho entre individuos.
Las 4 subclases IgG muestran propiedades considerablemente distintas, incluyendo la capacidad de fijación del complemento, unión a macrófagos y paso a través de la placenta. Niveles anormales de una o más subclases pueden estar asociados con ciertas condiciones, incluyendo anafilaxis, enfermedades autoinmunes e intestinales así como hipo- o hiper-gammaglobulinemia (ref. 1). Concretamente, una producción disminuida de IgG2 en niños puede estar asociada con infecciones recurrentes (ref. 2). Este tema ha sido revisado (refs 3, 4).
El BN ProSpec permite una automatización completa, la cuantificación rápida de reacciones de dispersión de luz para la determinación de proteínas

3 PRINCIPIO DEL MÉTODO

La evaluación de la concentración de un antígeno soluble por nefelometría supone la adición de la muestra a una solución que contiene el anticuerpo adecuado. Se hace pasar un haz de luz a través del recipiente de reacción donde, a medida que tiene lugar la reacción antígeno-anticuerpo, se forman complejos inmunes que dispersan la luz. Cuando el anticuerpo está en exceso, la luz dispersa es directamente proporcional a la concentración de antígeno. Se prepara inicialmente una curva de calibración con una serie de calibradores diluidos de concentración de antígeno conocida. De este modo pueden ensayarse muestras de concentración desconocida de antígeno y determinarse dicha concentración utilizando la curva de calibración.

Anticuerpos mejorados con látex. Algunas reacciones antígeno-anticuerpo no forman complejos inmunes suficientemente grandes para ser detectados por nefelometría. Si el anticuerpo se une a partículas de látex de un tamaño adecuado, la capacidad del complejo inmune formado para dispersar la luz queda incrementada de modo que permite su detección nefelométrica.

4 REACTIVOS

4.1 Antisueros IgG1 / IgG2 humana. Son monoespecíficos para la subclase correspondiente y se suministran en forma líquida estabilizada. Contienen: azida sódica 0.099%, BSA 0,5%, ácido E-amino-N-caproico (EACA) 0,1% y benzamidina 0,01% como conservantes.

4.2 Reactivo IgG3 / IgG4 humana Son monoespecíficos para la subclase correspondiente y se suministran en forma líquida estabilizada. Contienen 0,033% azida sódica, 0,05% ProClin™*, 0,01% EACA y 0,01% benzamidina como conservante.

4.3 Calibradores y controles. Preparados a partir de una mezcla estabilizada de suero humano, se suministran en forma líquida estabilizada. Conservantes: azida sódica 0,099%, EACA 0,1% y benzaminida 0,01%. La concentración de las subclases IgG indicada en la etiqueta se ha obtenido por comparación con el material de referencia CRM470 (ref. 5).

4.4 Reactivo suplementario. Contiene azida sódica 0,099% como conservante.

**ProClin™ es una marca registrada de Rohm and Haas Corp., Philadelphia, PA.*

5 PRECAUCIONES

Los sueros humanos suministrados en el kit han sido sometidos a screening para donantes, resultando negativos a la presencia del antígeno de superficie de la hepatitis B y a la presencia de los anticuerpos de la ante los virus HIV1, HIV2 y HCV. Las técnicas usadas están aprobadas por la FDA (USA) o para el diagnóstico *in vitro* por la UE (Directiva 98/79/EC, Anexo II). Sin embargo los sobredichos ensayos no garantizan la ausencia de agentes infecciosos. Por lo tanto, deben tratarse los reactivos como potencialmente infecciosos. Tanto la manipulación como los métodos de eliminación de desechos deberán realizarse conforme a la normativa de materiales infecciosos y solo personal adecuadamente instruido deberá efectuar el test.

AVISO: Este kit contiene azida sódica y ProClin 300 y debe manipularse con precaución; use guantes y vestuario protector adecuado en todo momento al manipular este producto. No trague ni permita el contacto con la piel o las mucosas (especilamente si hay heridas). En caso de contacto, lave con abundante agua y consulte a un médico. Con el plomo y el cobre pueden formarse azidas metálicas explosivas. Cuando se elimine el reactivo, lave con mucha agua los recipientes para evitar la acumulación de azida.

El presente producto debe ser utilizado por personal especializado. Se recomienda observar estrictamente el procedimiento indicado. No se garantizan resultados válidos obtenidos utilizando parámetros diferentes que los indicados.

Los reactivos de diferentes lotes **NO** son intercambiables. En caso de realizar un número elevado de tests, averigue que todos los reactivos sean del mismo lote.

6 CONSERVACIÓN Y ESTABILIDAD

El kit sin abrir debe conservarse a 2-8°C, y puede utilizarse hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta. El reactivo, calibradores y controles deben conservarse a 2-8°C. Una vez abiertos, son estables durante 4 semanas a 2-8°C siempre que se evite la evaporación y contaminación. Los viales abiertos no deben dejarse en el analizador cuando no se estén utilizando.
Los viales de antisuero no abierto pueden, con el tiempo, desarrollar un precipitado o turbidez que no está originada por contaminación microbiana y que no afecta a la actividad del antisuero. En estos casos el antisuero ha de aclararse por filtración a través de un filtro desechable de 0,2µm de poro o por centrifugación (unos 10 minutos a 15,000 x g).

7 OBTENCIÓN Y CONSERVACIÓN DE MUESTRAS

Utilice muestras de suero frescas o ultra congeladas. Las muestras de sangre se han de obtener por punción en vena, dejar que coagule de modo natural y separar el suero lo antes posible para prevenir la hemólisis. El suero se conserva a 2-8ºC hasta 8 días, o se congela sin diluir a -20ºC para periodos más largos. Evitar la congelación repetida de las muestras.
No deben utilizarse muestras hemolizadas, lipémicas, con contaminación microbiana o muestras que contengan partículas.

8 METODOLOGÍA

8.1 Material suministrado código: LK001.P kit

8.1.1 2 x 1mL *BS IgG Sub Std* (Calibrador IgG subclase humana)
8.1.2 2 x 1mL *BS IgG Sub Low Control* (Control bajo IgG subclase humana)
8.1.3 2 x 1mL *BS IgG Sub Control* (Control IgG subclase humana)
8.1.4 1 x 1,6mL *Human IgG1 BS Antiserum* (Antisuero de IgG1)
8.1.5 1 x 1,6mL *Human IgG2 BS Antiserum* (Antisuero de IgG2)
8.1.6 1 x 2,4mL *IgG3 BS Latex* (Látex de IgG3)
8.1.7 1 x 2,4mL *IgG4 BS Latex* (Látex de IgG4)
8.1.8 1 x 3mL *BS Supplementary Reagent L* (BS Reactivo suplementario L para los ensayos IgG3 e IgG4)

8.2 Código: NK006.P, NK007.P, LK008.P and LK009.P kits

8.2.1 2 x 1mL *BS IgG Sub Std* (Calibrador IgG subclase humana)
8.2.2 2 x 1mL *BS IgG Sub Low Control* (Control bajo IgG subclase humana)
8.2.3 2 x 1mL *BS IgG Sub Control* (Control elevado IgG subclase humana)
8.2.4 4 x 1,6mL antisuero o 4 x 2,4mL reactivo látex de la subclase correspondiente.
8.2.5 2 x 3,0mL *BS Supplementary Reagent L* i (BS Reactivo suplementario L para los ensayos LK008.P y LK009.P)

8.3 Materiales necesarios pero no suministrados

8.3.1 Materiales necesarios para la recolección y preparación de las muestras.
8.3.2 Un analizador funcional y equipado.

8.4 Procedimiento de ensayo

8.4.1 El usuario debe estar familiarizado con el manejo del BN ProSpec® antes de llevar a cabo procedimientos de ensayo.
8.4.2 Prepare el analizador según el manual de usuario.
8.4.3 Los protocolos de ensayo de subclases IgG subclass assay están definidos en el analizador.
8.4.4 Es necesario un representante de Siemens para crear nuevos protocolos de ensayo:

IgG1

Assay-Details

Assay-ID: 201	Name: G1	long name: TBS IgG1
Version: 100	Assayclass: Neph	Assaygroup: Serum
Result unit: mg/L	Sample dilution: 1:100	Min. dilution: 1:5

Evaluation:
Measurement duration [1/10 sec.]: 3600 — Measurement transfer: 2
Evaluation method: 8 - Two point (BNII) — Meas window [1/10 sec.] from: 75 until: 3600
Blockmode: 0 — Overflow: 0

Calibration:
Calibration method: LogitLog — Calibrator: 1306 - IgG Std
Deviation[%]: 5% — Start dilution: 1:10
Cal valid until: 100 — Supporting points: 6

Special parameters:
Parameter 1: 2

Controls:

Control ID	Name	Dilution	Deviation[%]	Level
0776	TBS IgG Sc.1	1:100	15	Medium
0975	TBS IgG Sc.2	1:100	15	Low

Transfers: 1
Mixing: No mixing — Start wash: 06 - goto waste — End wash: 00 - normal
Incubation time[1/10sec.]: 0 — Incubation delta [1/10sec.]: 0

Medium	Type	Syringe profile	Medium ID	Volume[µl]	
Medium 1:	SystemLiquid	7	Buffer	170	
Medium 2:	SystemLiquid	2	Air Bubble	2	
Medium 3:	Sample	3		20	No Calib
Medium 4:	Destination	3		-92	

Transfers: 2
Mixing: normal — Start wash: 06 - goto waste — End wash: 06 - park needle
Incubation time[1/10sec.]: 0 — Incubation delta [1/10sec.]: 0

Medium	Type	Syringe profile	Medium ID	Volume[µl]	
Medium 1:	SystemLiquid	7	Buffer	170	
Medium 2:	SystemLiquid	2	Air Bubble	2	
Medium 3:	Reagent	3	1301 - G1	40	No Calib
Medium 4:	Destination	6		-112	

IgG2

Assay-Details

Assay-ID: 202	Name: G2	long name: TBS IgG2
Version: 100	Assayclass: Neph	Assaygroup: Serum
Result unit: mg/L	Sample dilution: 1:20	Min. dilution: 1:5

Evaluation:
Measurement duration [1/10 sec.]: 3600 — Measurement transfer: 2
Evaluation method: 8 - Two point (BNII) — Meas window [1/10 sec.] from: 75 until: 3600
Blockmode: 0 — Overflow: 0

Calibration:
Calibration method: LogitLog — Calibrator: 1306 - IgG Std
Deviation[%]: 5% — Start dilution: 1:5
Cal valid until: 100 — Supporting points: 6

Special parameters:
Parameter 1: 2

Controls:

Control ID	Name	Dilution	Deviation[%]	Level
0776	TBS IgG Sc.1	1:20	15	Medium
0975	TBS IgG Sc.2	1:20	15	Low

Transfers: 1
Mixing: No mixing — Start wash: 06 - goto waste — End wash: 00 - normal
Incubation time[1/10sec.]: 0 — Incubation delta [1/10sec.]: 0

Medium	Type	Syringe profile	Medium ID	Volume[µl]	
Medium 1:	SystemLiquid	7	Buffer	170	
Medium 2:	SystemLiquid	2	Air Bubble	2	
Medium 3:	Sample	3		15	No Calib
Medium 4:	Destination	3		-87	

Transfers: 2
Mixing: normal — Start wash: 06 - goto waste — End wash: 06 - park needle
Incubation time[1/10sec.]: 0 — Incubation delta [1/10sec.]: 0

Medium	Type	Syringe profile	Medium ID	Volume[µl]	
Medium 1:	SystemLiquid	7	Buffer	170	
Medium 2:	SystemLiquid	2	Air Bubble	2	
Medium 3:	Reagent	3	1302 - G2	40	No Calib
Medium 4:	Destination	6		-112	

IgG3

Assay-Details

Assay-ID: 203	Name: G3L	long name: TBS LIgG3
Version: 100	Assayclass: Neph	Assaygroup: Serum
Result unit: mg/L	Sample dilution: 1:100	Min. dilution: 1:5

Evaluation:
Measurement duration [1/10 sec.]: 3600 — Measurement transfer: 2
Evaluation method: 8 - Two point (BNII) — Meas window [1/10 sec.] from: 75 until: 3600
Blockmode: 0 — Overflow: 0

Calibration:
Calibration method: LogitLog — Calibrator: 1306 - IgG Std
Deviation[%]: 5% — Start dilution: 1:80
Cal valid until: 100 — Supporting points: 5

Special parameters:
Parameter 1: 2

Controls:

Control ID	Name	Dilution	Deviation[%]	Level
0776	TBS IgG Sc.1	1:100	15	Medium
0975	TBS IgG Sc.2	1:100	15	Low

Transfers: 1
Mixing: No mixing — Start wash: 06 - goto waste — End wash: 00 - normal
Incubation time[1/10sec.]: 0 — Incubation delta [1/10sec.]: 0

Medium	Type	Syringe profile	Medium ID	Volume[µl]	
Medium 1:	SystemLiquid	7	Diluens	160	
Medium 2:	Reagent	2	1305 - SRL	10	
Medium 3:	Sample	3		20	No Calib
Medium 4:	Destination	3		-90	

Transfers: 2
Mixing: normal — Start wash: 06 - goto waste — End wash: 06 - park needle
Incubation time[1/10sec.]: 0 — Incubation delta [1/10sec.]: 0

Medium	Type	Syringe profile	Medium ID	Volume[µl]	
Medium 1:	SystemLiquid	7	Diluens	160	
Medium 2:	SystemLiquid	2	Air Bubble	2	
Medium 3:	Reagent	3	1303 - G3L	50	No Calib
Medium 4:	Destination	6		-112	

IgG4

Assay-Details

Assay-ID: 204	Name: G4L	long name: TBS LIgG4
Version: 100	Assayclass: Neph	Assaygroup: Serum
Result unit: mg/L	Sample dilution: 1:100	Min. dilution: 1:5

Evaluation:
Measurement duration [1/10 sec.]: 3600 — Measurement transfer: 2
Evaluation method: 8 - Two point (BNII) — Meas window [1/10 sec.] from: 75 until: 3600
Blockmode: 0 — Overflow: 0

Calibration:
Calibration method: LogitLog — Calibrator: 1306 - IgG Std
Deviation[%]: 5% — Start dilution: 1:80
Cal valid until: 100 — Supporting points: 5

Special parameters:
Parameter 1: 2

Controls:

Control ID	Name	Dilution	Deviation[%]	Level
0776	TBS IgG Sc.1	1:100	15	Medium
0975	TBS IgG Sc.2	1:100	15	Low

Transfers: 1
Mixing: No mixing — Start wash: 06 - goto waste — End wash: 00 - normal
Incubation time[1/10sec.]: 0 — Incubation delta [1/10sec.]: 0
Medium 1:
Type: SystemLiquid — Medium ID: Diluens
Syringe profile: 7 — Volume[µl]: 160
Medium 2:
Type: Reagent — Medium ID: 1305 - SRL
Syringe profile: 2 — Volume[µl]: 10
Medium 3:
Type: Sample — Medium ID: — No Calib
Syringe profile: 3 — Volume[µl]: 20
Medium 4:
Type: Destination — Medium ID:
Syringe profile: 3 — Volume[µl]: -90

Transfers: 2
Mixing: normal — Start wash: 06 - goto waste — End wash: 06 - park needle
Incubation time[1/10sec.]: 0 — Incubation delta [1/10sec.]: 0
Medium 1:
Type: SystemLiquid — Medium ID: Diluens
Syringe profile: 7 — Volume[µl]: 160
Medium 2:
Type: SystemLiquid — Medium ID: Air Bubble
Syringe profile: 2 — Volume[µl]: 2
Medium 3:
Type: Reagent — Medium ID: 1304 - G4L — No Calib
Syringe profile: 3 — Volume[µl]: 50
Medium 4:
Type: Destination — Medium ID:
Syringe profile: 6 — Volume[µl]: -112

8.5 Rango de medida y sensibilidad

Especificidad	Rango de medida aproximada		Sensibilidad aproximada	
	mg/L	Dilución de muestra	mg/L	Dilución de muestra
IgG1	2625-84000	1/100	131	1/5
IgG2	613-19600	1/20	153	1/5
IgG3	55 – 875	1/100	2,7	1/5
IgG4	38 - 613	1/100	1,9	1/5

9 INTERPRETACIÓN DE DATOS

Control de calidad: Las concentraciones de subclases IgG asignadas a los controles suministrados se indican en las etiquetas de los viales. Los valores obtenidos para el control suministrado deben estar dentro de ±15% del valor de concentración indicado en la etiqueta.

10 LIMITACIONES

10.1 Se ha comprobado que los ensayos nefelométricos de subclases IgG correlacionan bien con los ensayos RID de dilución única de Binding Site, con un amplio número de muestras.

10.2 Estos kits no son adecuados para la medida de muestras con niveles elevados de factores reumatoides, paraproteinas, complejos inmuno circulantes (CICs), o para muestras hemolizadas o lipémicas, debido al impredecible grado de dispersión inespecífica que pueden generar estas muestras. Resultados inesperados deben confirmarse mediante un método alternativo.

10.3 Se recomienda a los clientes que ensayen ambos controles con cada lote de muestras ensayadas. Si un valor de control queda fuera de rango cuando se ensaya frente a una curva almacenada, el ensayo debe recalibrarse. Si quedan fuera de los límites aceptables en un ±15% frente a la nueva curva de calibración, se ha de comprobar el instrumento antes de repetir el ensayo. Si los problemas continúan, póngase en contacto con su proveedor.

10.4 Los resultados de la medida de subclases IgG no deben utilizarse para evaluar atopia en pacientes alérgicos.

10.5 No debe realizarse el diagnóstico ni iniciarse un tratamiento basándose únicamente en la medida de las subclases IgG, deben tenerse en cuenta también la historia clínica y resultados de otras pruebas de laboratorio.

11 VALORES ESPERADOS

Los valores indicados a continuación se obtuvieron a partir de un número limitado de muestras inglesas y se ofrecen únicamente como una guía. Es muy recomendable que cada laboratorio establezca sus propios rangos de normalidad.

11.1 Rangos normales, adultos

Estos rangos se obtuvieron midiendo las subclases en sueros proporcionados por el Birmingham Blood Transfusion Service, de donantes adultos sanos.

Subclase IgG	Número (n)	Media (mg/L)	Mediana (mg/L)	Rango 95 Percentil (mg/L)
IgG1	30	6330	6085	3824 – 9286
IgG2	30	4528	4541	2418 – 7003
IgG3	30	790.7	706,4	218,2 –1760,6
IgG4	30	280.0	215,3	39,2 – 864,0

11.2 Rangos pediátricos

Estos rangos se obtuvieron midiendo la IgG total y las subclases en muestras de suero pediátricas del Birmingham Hospital, utilizando productos de inmunodifusión radial de Binding Site. Las concentraciones se expresan en mg/L.

0-2 años	N	Media	Rango 95% percentil
IgG1	39	5248	1940 – 8420
IgG2	39	838	225 – 3000
IgG3	39	445	186 – 853
IgG4	39	129	5 – 784
IgG total	39	6640	3270 – 12700
2-4 años			
IgG1	36	5495	3150 – 9450
IgG2	36	1146	360 – 2250
IgG3	36	396	173 – 676
IgG4	36	171	10 – 537
IgG total	36	7770	4680 – 12500
4-6 años			
IgG1	49	6149	3060 – 9450
IgG2	49	1496	605 – 3450
IgG3	49	531	99 – 1221
IgG4	49	329	18 – 1125
IgG total	49	9280	5320 - 13400
6-8 años			
IgG1	43	5758	2880 – 9180
IgG2	43	1754	440 – 3750
IgG3	43	437	155 – 853
IgG4	43	331	4 – 992
IgG total	43	8860	4540 – 13600
8-10 años			
IgG1	32	6345	4320 – 10200
IgG2	32	2126	720 – 4300
IgG3	32	521	127 – 853
IgG4	32	349	19 – 932
IgG total	32	9700	5680 - 13600
10-12 años			
IgG1	46	6421	4230 – 10600
IgG2	46	1980	760 – 3550
IgG3	46	620	173 – 1730
IgG4	46	323	16 – 1150
IgG total	46	10200	5680 - 14900
12-14 años			
IgG1	54	6581	3420 – 11500
IgG2	54	2486	1000 – 4550
IgG3	54	583	283 – 1250
IgG4	54	409	37 – 1360
IgG total	54	10500	6640 – 14900
14-18 años			
IgG1	48	6057	3150 – 8550
IgG2	48	2614	640 – 4950
IgG3	48	708	230 –1960
IgG4	48	521	110 – 1570
IgG total	48	10100	5500 – 14400

12 CARACTERÍSTICAS DEL ENSAYO

Las características del ensayo que aquí se muestran se han generado en un Siemens BN™II que es un analizador que funciona del mismo modo que el Siemens BN ProSpec®.

12.1 Precisión intra-ensayo

Se ensayaron 3 preparaciones de suero con niveles distintos de subclases IgG. Cada una se ensayó 10 veces. Todas las concentraciones están en mg/L.

	IgG1		IgG2		IgG3		IgG4	
	Media	CV %	Media	CV %	Media	CV %	Media	CV %
Suero 1	40529	1,56	8256	2,59	668,6	2,74	534,1	3,05
Suero 2	12630	1,67	1736	2,16	517,8	2,76	396,1	2,95
Suero 3	3350	6,44	758.5	8,19	353,1	3,49	324,8	5,08

12.2 Precisión inter-ensayo

Se ensayaron 3 preparaciones de suero con niveles distintos de subclases IgG al menos en tres ensayos distintos. Todas las concentraciones están en mg/L. (N) = número de ensayos.

	IgG1		IgG2		IgG3		IgG4	
	Media	CV % (N)	Media	CV % (N)	Media	CV % (N)	Media	CV % (N)
Suero 1	40765	4,38 (6)	7811	6,84 (6)	697,5	4,41 (3)	532,6	4,10 (3)
Suero 2	12402	2,39 (6)	1621	4,18 (6)	525,9	2,38 (4)	387,7	4,13 (3)
Suero 3	3043	6,95 (6)	780,1	2,43 (6)	353,1	3,00 (3)	319,6	4,38 (4)

*BN™ e una marca registrada de Siemens Healthcare Diagnostics Inc.

13 BIBLIOGRAFÍA

1. Shakib, F & Stanworth D R (1980). Human IgG subclasses in health and disease (Part II). La Ricerca Clin. Lab. 10, 561-580.
2. Shackleford, P G, Polmar, S H et al. (1986). Spectrum of IgG2 subclass deficiency in children with recurrent infections: Prospective study. J. Pediatr. 108, 647-653.
3. Hamilton, R H (1987), Human IgG subclass measurements in the clinical laboratory. Clin. Chem. 33, 1707-1725.
4. Schur, P H (1987), IgG subclasses – a review. Annals of Allergy 58, 89-99
5. Carr-Smith, H.D, Overton, J, Bradwell, A.R. (1997). IgG subclass value assignment to the protein reference preparation CRM470. Clin. Chem. Vol. 43, No 56, PS238.